

## Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Daria Prokofeva

Školitel: Burkhard Horstkotte, Ph.D., M.Sc.

Konzultant: Doc. PharmDr. Hana Sklenářová Ph.D.

Název práce: Studium měření selektivity velikosti buněčných subpopulací pomocí frakcionace tokem v poli

Byla zkoumána účinnost buněčné separace sedimentační frakcionací tokem v poli (SdFFF) prostřednictvím buněčné izolace a další charakterizace separovaných frakcí. V této práci byla testována jen SdFFF.

Jako analyt byly použity kolorektální rakovinné (CRC) buněčné linie -WiDr, HCT116. Polydisperzní heterogenní buněčná populace, jako CRC buněčná linie, obsahuje buňky v různých vývojových stádiích diferenciaci, včetně rakovinných kmenových buněk, jež jsou pravděpodobně zodpovědné za rakovinné bujení a terapeutickou účinnost léčby.

SdFFF byla pro získání subpopulací (frakcí) kolorektálních rakovinných buněk použita v tzv. nadvrstevním režimu a následně byla studována účinnost velikost-zavislé separace a byla provedena charakterizace parametrů metody. V prvním kroku byly získány buněčné subpopulace pomocí kolekce buněk z různých pozic elučního píku. Získané subpopulace byly zpětně nastříkovány do SdFFF přístroje za účelem získání elučního profilu každé frakce. Změřená průměrná velikost a retenční čas separované frakce byly použity pro zjištění velikostní selektivity ( $S_d$ ) metody. Experiment byl zopakován třikrát pro WiDr a dvakrát pro HCT116 buňky.

Doba kolekce frakcí byla 10 s, avšak eluce zpětně nastříkovaných separovaných frakcí trvala 2-3 min. Výsledky zpětného nastříkovaní frakcí prokazují vysokou polydisperzitu buněčných populací. Variabilita a odchylky od předpovězených hodnot velikostní selektivity  $S_d$  jsou spojeny s proměnlivými biofyzikální parametry, jako je hustota, tvar, rigidita atd.

Na základě získaných výsledků SdFFF nelze prozatím použít jako účinnou separační metodu pro charakterizaci polydisperzní a komplexní CRC populace založenou pouze na velikosti částic; je nutno brát v úvahu také ostatní biofyzikální parametry. K efektivní buněčné separaci jsou tedy vyžadovány další výzkum a optimalizace SdFFF metody.